

## 学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 4 4 2 号	学位授与年月日	平成 1 9 年 4 月 2 0 日
氏 名	岡 田 満 夫		
論文題目	Biomechanical and phenotypic changes in the vasospastic canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage (くも膜下出血後の攣縮したイヌ脳底動脈における生物力学的変化と表現型の変化)		

博士(医学) 岡 田 満 夫

## 論文題目

Biomechanical and phenotypic changes in the vasospastic canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage  
(くも膜下出血後の攣縮したイヌ脳底動脈における生物力学的変化と表現型の変化)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

脳血管攣縮とはくも膜下出血後の脳血管のみに生ずる特殊な病態である。くも膜下出血が発症すると、その後3日目から約2週間もの間、脳血管は異常収縮し脳虚血を引き起こす。しかし、この原因が遷延した平滑筋収縮なのか、他の機構が関与しているかは明らかになっていない。今回われわれは血管平滑筋の表現型の変化に注目し、脳血管攣縮への関与について明らかにした。

### [材料ならびに方法]

イヌ自己血大槽内注入くも膜下出血モデルを使用した。くも膜下出血作成後day 1、day 7、day 14、day 21そしてday 28の時点で以下の項目について評価した。脳血管撮影上の脳底動脈の径の変化、摘出脳底動脈のhigh-K<sup>+</sup>刺激による血管の最大収縮力、塩酸パパペリンによる血管弛緩能、血管硬度、HE染色、アザン染色、抗SMemb、抗SM-1、抗SM-2抗体による免疫染色とその半定量、そして摘出脳底動脈内コラーゲン含量を測定、比較した。

### [結果]

脳血管撮影上の脳底動脈の径：day 1を100 %とした時、day 7で $47 \pm 7$ 、day 14で $45 \pm 4$ 、day 21から徐々に回復しday 28に $91 \pm 4$  %であった。high-K<sup>+</sup>刺激による摘出血管の最大収縮力：day 1、7、14、28において $3.31 \pm 0.40$ 、 $2.18 \pm 0.21$ 、 $1.39 \pm 0.26$ 、 $1.26 \pm 0.15$ 、 $2.05 \pm 0.23$  g/mmであった。塩酸パパペリンに反応しない割合： $1.5 \pm 3.2$ 、 $52.7 \pm 5.4$ 、 $94.6 \pm 2.9$ 、 $90.9 \pm 8.5$ 、 $91.7 \pm 4.3$  %であった。血管硬度： $0.7 \pm 0.07$ 、 $1.1 \pm 0.10$ 、 $1.3 \pm 0.15$ 、 $2.8 \pm 0.35$ 、 $2.1 \pm 0.24$  g/mmであり、脳血管撮影上の攣縮の時間経過と一致していなかった。HE染色およびアザン染色：短く丸い平滑筋細胞と間質の増殖による平滑筋層の肥厚がday 7、14、21に認められた。免疫染色：分泌型平滑筋を示すSMemb陽性平滑筋細胞の出現がday 7、14、21にみられ、SM-1とSM-2陽性平滑筋細胞はday 1、7、21にみられday 14、21は認めなかった。摘出脳底動脈内コラーゲン含量：コントロール血管で $304.3 \pm 33.0$ 、day 7で $341.9 \pm 77.0$ 、day 14で $436 \pm 31.1$ 、day 21で $297.3 \pm 44.4$ 、そしてday 28で $220.5 \pm 23.8$   $\mu$ g/mgであり、day 14でのみ有意差をもって高値であった。

### [考察]

イヌ自己血大槽内注入くも膜下出血モデルではday 7からday 14において脳血管撮影上の脳血管攣縮が重度であり、その後day 28にかけて徐々に回復していった。これはヒトの臨床データとほぼ同じ結果である。脳血管撮影上の脳血管攣縮の結果とは違って、high-K<sup>+</sup>刺激による血管の最大収縮力は、day 7から減衰しday 21で最も顕著であった。血管硬度はday 7から増加しday 21で最も顕著となり、かつ血管の弛緩力はday 7からday 28で著明に傷害された。くも膜下出血後day 7からday 14の遷延する後期脳血管攣縮は、血管の収縮力の増加が主因ではないことをこれらの結果は示している。さらに組織学的には脳血管撮影

上の後期脳血管攣縮に一致して、平滑筋は収縮型から分泌型へ表現型を転換していた。収縮型平滑筋は紡錘形で収縮力があるが、分泌型平滑筋は短型で収縮および弛緩能がなくさらに細胞間質を合成することが知られている。後期脳血管攣縮は、分泌型へと形質転換した平滑筋により血管機能が傷害され、形態変化から血管径が短縮していると考えられた。血管平滑筋が再び収縮型となるとともに脳血管攣縮は回復している。以上より後期脳血管攣縮は、主に血管平滑筋に起こる生物力学的形態的变化が原因となっていることが明らかになった。しかし、われわれの結果で血管平滑筋が収縮型にもどっているにもかかわらず血管機能が回復していないことから、分泌型から再び収縮型へ形質転換した平滑筋は機能回復まである程度の時間が必要である可能性があると考えられる。この不一致を明らかにするために今後更なる検討が必要である。

#### [結論]

血管平滑筋の収縮型から分泌型への表現型の変化は、くも膜下出血後の後期脳血管攣縮に関与している。後期脳血管攣縮の治療戦略として平滑筋形質転換抑制を治療目的としていくことが重要である。

### 論文審査の結果の要旨

脳血管攣縮とはくも膜下出血後の脳血管のみに生ずる特殊な病態である。くも膜下出血が発症すると、その後3日目から約2週間もの間、脳血管は異常収縮し脳虚血を引き起こす。しかし、この原因が遷延した平滑筋収縮なのか、他の機構が関与しているかは明らかになっていない。そこで申請者は血管平滑筋の表現型の変化に注目し、脳血管攣縮への関与について明らかにした。

イヌ自己血大槽内注入くも膜下出血モデルを使用した。くも膜下出血作成後day 1、day 7、day 14、day 21そしてday 28の時点で以下の項目について評価し、結果を得た。

#### 1) 脳血管撮影上の脳底動脈の径の変化

day 1を100 %とした時、day 7で $47 \pm 7$  %、day 14で $45 \pm 4$  %、と収縮が見られ、その後day 21から徐々に回復しday 28では $91 \pm 4$  %となった。

#### 2) 摘出脳底動脈のhigh-K<sup>+</sup>刺激による血管の最大収縮力

high-K<sup>+</sup>刺激による最大収縮力はday 14およびday 21で低下が最大となり、day 28でやや回復をした。

#### 3) 塩酸パパベリンによる血管弛緩能

塩酸パパベリンに反応しない割合はday 14からday 28まで90%以上に達した。

#### 4) 血管硬度

day 21をピークとして徐々に硬度を増し、day 28ではやや改善が見られた。しかし、脳血管撮影上の攣縮の時間経過と一致していなかった。

#### 5) HE染色、アザン染色、抗SMemb、抗SM-1、抗SM-2抗体による免疫染色とその半定量

平滑筋細胞の形質変換と間質の増加がday 7、14、21に認められた。免疫染色で分泌型平滑筋を示すSMemb陽性平滑筋細胞の出現がday 7、14、21に見られ、SM-1とSM-2陽性平滑筋細胞はday 1、7、28に見られday 14、21は認められなかった。

#### 6) 摘出脳底動脈内コラーゲン含量

コラーゲンの含量はday 14をピークとして徐々に増加したが、day 28ではコントロールレベルまで減少した。

以上の結果から、申請者は後期脳血管攣縮の発症メカニズムに血管収縮機能の亢進でなく、血管平滑筋の形質転換が関与していることを示した。

審査委員会では、後期脳血管攣縮に関わる新規メカニズムを解明し、また新規治療法への道を開く可能性を示したことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 使用したくも膜下出血モデルの妥当性について
- 2) 脳血管径の測定法について
- 3) 血管内皮除去方法について
- 4) day 14に起こる血管攣縮のメカニズムについて
- 5) high-K<sup>+</sup>刺激による血管収縮のメカニズムについて
- 6) 塩酸パパベリンによる血管弛緩のメカニズムについて
- 7) high-K<sup>+</sup>刺激による血管収縮の減弱と血管攣縮の関係について
- 8) 血管攣縮と血管の硬度の関係について
- 9) コラーゲン含有量とアザン染色との関係について
- 10) 血管硬度と平滑筋形質転換との関係について
- 11) day 28における血管攣縮の減弱のメカニズムについて

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梅	村	和	夫	
	副査	渡	邊	裕	司	副査 山 本 清 二